
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de É. Metchnikoff.

INFLUENCE

DE LA TEMPÉRATURE SUR LA PHAGOCYTOSE

par TH. MADSEN et OVE WULFF.

(Travail de l'Institut sérothérapique de l'Etat Danois.)

Des recherches précédentes faites sur ce sujet (par *Ledingham*, *Milhit*, *Sulima*, *Wulff*, etc.) ont démontré que la phagocytose augmente par la température entre certaines limites, mais une étude exacte ayant l'objet de déterminer l'optimum phagocytaire n'a pas encore été entreprise.

Pour tenter de résoudre ce problème nous avons préféré travailler sur le pouvoir phagocytaire des globules blancs eux-mêmes, sans addition de sérum, excluant ainsi toute action des opsonines. Par ce procédé nous avons espéré obtenir les conditions d'expérience les plus simples.

Nous avons employé la technique suivante : le sang humain est recueilli dans une solution de citrate de sodium à 0,25 p. 100 et ensuite lavé par centrifugations répétées avec l'eau physiologique.

Dans une pipette Pasteur on aspire les émulsions du sang et des microbes en quantités égales, séparées par une bulle d'air. La pipette fermée par

fusion est placée pendant un temps défini à la température de l'expérience. Ensuite on casse la pointe de la pipette et on fait vivement se mélanger les deux émulsions; la pipette est de nouveau refermée puis exposée à la température de l'expérience. Après 15 minutes la réaction est interrompue et on détermine le degré de la phagocytose de la manière usuelle.

Les microbes sont obtenus par l'émulsion d'une culture en gélose d'environ 24 heures en l'eau physiologique.

Généralement les expériences sont exécutées en double avec des *B. coli* et des staphylocoques. Dans les tableaux ci-dessous on a, comme index phagocytaire, indiqué le nombre moyen des microbes par phagocyte.

TABLEAU I. — Index phagocytaire.

TEMPÉRATURE	B. COLI		STAPHYLOCOQUES	
	obs.	calc.	obs.	calc.
0°	0,50	0,64	0,52	0,53
5°	0,86	0,81	0,88	0,77
10°	1,04	1,00	1,10	1,09
15°	1,24	1,24	1,58	1,54
20°	1,44	1,53	2,46	2,15
25°	1,80	1,85	2,86	2,96
30°	2,24	2,24	3,78	4,05
35°	3,92	2,69	5,46	5,46
40°	2,48		4,22	
45°	1,32		2,14	
	$\mu = 6.870$		$\mu = 11.230$	

TABLEAU II. — Index phagocytaire.

Température	B. Coli	Staphylocoques
33°	2,14	1,90
35°	2,82	3,00
37°	3,74	3,46
39°	3,06	2,26
41°	2,00	1,66
43°	1,26	»
50°	0,54	0,60

TABLEAU III. — Index phagocytaire.

TEMPÉRATURE	B. COLI		STAPHYLOCOQUES	
	obs.	calc.	obs.	calc.
0°	0,52	0,54	0,32	0,39
9°	0,78	0,86	0,62	0,62
16°5	1,20	1,22	1,16	0,92

TEMPÉRATURE	B. COLI		STAPHYLOCOQUES	
	obs.	calc.	obs.	calc.
20°	1,44	1,43	1,34	1,08
26°	1,80	1,87	1,50	1,43
31°	2,02	2,32	1,68	1,80
34°	2,22	2,62	2,02	2,04
36°	2,48	2,85	2,20	2,20
37°	2,96	2,96	2,78	2,34
	$\mu = 7.760$		$\mu = 8.200$	

Ces tableaux montrent un accroissement continu du pouvoir phagocytaire partant de 0° jusque 37°, tandis qu'il y a une baisse considérable aux températures plus élevées.

TABEAU IV. — Index phagocytaire.

Température	B. Coli	Staphylocoques
— 5°	0,00	0,16
35°	1,18	1,46
36°	1,68	2,12
37°	2,42	2,76
38°	2,06	2,26
39°	1,28	1,60
55°	0,05	0,18

L'expérience du tableau IV exécutée à des intervalles plus rapprochés montre qu'avec les leucocytes du sang humain normal l'optimum est exactement à 37°.

A — 5° il y a encore de faibles traces de phagocytose; de l'autre côté le phénomène a presque disparu à + 55°.

La courbe ci-dessous représente graphiquement les relations entre la température et la phagocytose.

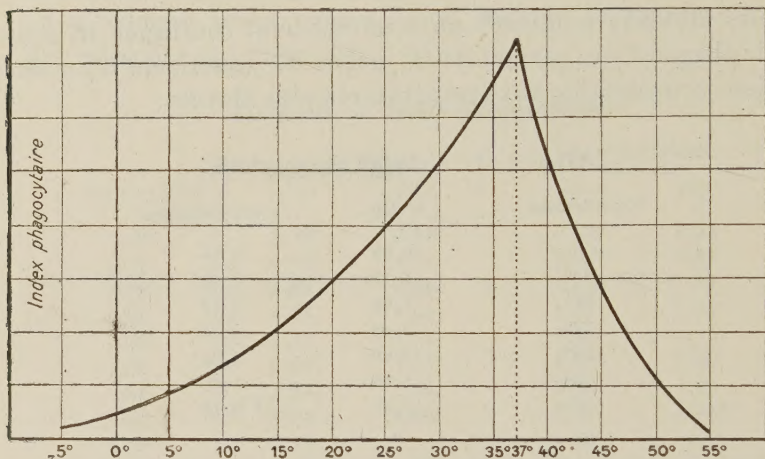
Nous avons examiné si les relations entre la température et le pouvoir phagocytaire suivaient la loi de van't Hoff-Arrhenius :

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{\frac{\mu}{2} \cdot \frac{T_1 - T_2}{T_1 \cdot T_2}}$$

où K_1 et K_2 indiquent les pouvoirs phagocytaires aux températures T_1 et T_2 , T_1 , T_2 indiquent les températures absolues, e la base des logarithmes naturels et μ une constante.

Les tableaux I, II, III, IV, contiennent, dans les colonnes

marquées calc., les valeurs calculées par la formule indiquée. On y a observé une concordance remarquable, exception faite aux températures optimales, où la phagocytose observée surpasse parfois les valeurs théoriques; voir aussi tableau XVIII. Il faut pourtant se rappeler l'incertitude de la détermination du pouvoir phagocytaire, vu la circonstance que celui-ci a été observé 15 minutes seulement après le mélange des microbes et des phagocytes.



Dans les expériences précédemment citées les *B. coli* et les staphylocoques vont de pair. Une autre expérience fut entreprise pour constater si le cas était le même pour d'autres microbes.

TABLEAU V.

	10°	25°	37°	42°
<i>B. anthrac.</i> . . .	0,58	1,05	2,06	1,20
<i>B. typhique.</i> . .	0,62	1,00	2,80	1,40
<i>B. coli</i>	0,65	1,10	3,06	1,25
Staphylocoques.	0,54	1,12	3,10	1,40
Streptocoques .	1,36	2,74	3,50	1,95
<i>B. proteus.</i> . . .	1,56	2,30	4,08	1,90
<i>V. bris nasik.</i> . .	1,06	2,66	5,46	1,80
<i>B. diphtérique.</i> .	3,14	4,72	12,36	2,86

Il est à remarquer dans le tableau V que huit espèces différentes de microbes se comportaient de la même manière, ce

qui nous donne une grande probabilité pour qu'il s'agisse, ici, d'une loi applicable à bien des cas.

On s'occupe seulement, dans toutes ces expériences, de la *phagocytose spontanée*, mais d'après celles de Wulff il est fort probable que la phagocytose, en *présence du sérum*, se comportera de la même manière, mais naturellement avec un index phagocytaire plus élevé.

Ainsi l'optimum phagocytaire des leucocytes humains normaux se trouve à 37°. Quel est-il chez les animaux, où la température du sang est autre? Nous avons, à cet égard, examiné les phagocytes du cobaye (température normale 39°), du coq et du pigeon (température normale 41°).

TABLEAU VI. — Index phagocytaire.

	Température	B. Coli	Staphylocoques
<i>Cobaye</i> . . .	37°	1,68	1,04
	39°	2,50	1,74
	41°	1,36	1,02
<i>Coq</i>	37°	1,68	2,04
	39°	2,42	2,52
	41°	3,00	2,72
	45°	1,36	1,25
<i>Pigeon</i> . . .	37°	1,78	2,18
	39°	2,02	2,40
	41°	2,35	2,94
	45°	1,23	1,80

Il ressort du tableau VI que, dans ces exemples, l'optimum phagocytaire coïncide avec la température normale des organismes, fournisseurs des leucocytes. Il nous parut ensuite intéressant d'examiner si, dans un organisme dont la température oscillait pendant de courts intervalles, l'optimum phagocytaire variait de façon correspondante. Les malades fébricitants se prêtaient bien à ces recherches (1).

D'abord des expériences de contrôle montraient que l'optimum phagocytaire chez deux malades sans élévation de température se trouvait à 37°.

(1) Le professeur ROVSING, *Rigshospitalets Afd. C.*, a bien voulu nous permettre d'exécuter ces recherches à son hôpital, ce qui lui donne droit à toute notre gratitude.

TABLEAU VII. — Index phagocytaire des personnes sans élévation de la température.

Température	I		II	
	B. Coli	Staphylocoques	B. Coli	Staphylocoques
36°	2,80	3,56	2,72	3,58
37°	3,26	4,90	3,36	5,20
38°	2,90	4,00	3,04	3,94

Une série d'expériences assez étendues permettent de voir que, chez les personnes fébricitantes, l'optimum suit exactement la température du malade. Nous présentons quelques exemples :

TABLEAU VIII. — Température, malade 38°5.

Température	Index phagocytaire
37°	1,90
38°	2,75
39°	1,92

TABLEAU IX. — Température, malade 38°.

Température	Index phagocytaire
37°	4,76
38°	5,22
39°	5,22
40°	4,60

TABLEAU X. — Température, malade 39°.

Température	Index phagocytaire
37°	5,66
38°	6,77
39°	8,28
40°	7,05

TABLEAU XI. — Température, malade 39°.

Température	Index phagocytaire
37°	2,65
38°	3,14
39°	4,68

Après cette constatation il restait à examiner à quel degré et à quelle vitesse les globules blancs étaient en état de varier leur optimum avec les variations journalières d'un fébricitant.

TABLEAU XII. — Malade fébricitant.

TEMPÉRATURE	TEMPÉRATURE	
	DU SOIR : 38°4	DU MATIN : 37°5
37°	2,00	1,80
38°5	»	[2,26]
38°	2,44	1,72
38°4	[2,48]	»
39°	2,08	1,48
40°	1,56	»

Le tableau XII représente un malade souffrant d'une affection urinaire, dont la température du soir était de 38°4, et celle du matin suivant (quinze heures plus tard) de 37°5. Dans tous ces cas le déplacement de l'optimum correspond exactement à la baisse de la température. Le plus prononcé que nous ayons

TABLEAU XIII. — Malade fébricitant.

TEMPÉRATURE	TEMPÉRATURE	
	DU SOIR : 39°3	DU MATIN : 38°
37°	1,80	2,18
38°	2,02	[2,82]
39°	2,54	2,20
39°3	[2,88]	»
40°	2,34	»

Affection spinale chez un homme : Température du soir 39°3.
Température du matin, 15 heures plus tard, 38°.

TABLEAU XIV. — Malade fébricitant.

TEMPÉRATURE	TEMPÉRATURE	
	DU SOIR : 38°6	DU MATIN : 38°
37°	2,20	2,82
38°	2,46	[3,48]
38°6	[3,58]	»
39°	2,78	2,68
40°	2,40	»

observé était une femme, souffrant d'une pyélite calculieuse. La température ne variait pas de moins de 4° pendant les quatorze heures du soir au matin suivant, et l'optimum phagocytaire suivait exactement ces variations.

TABLEAU XV. — Malade fébricitant.

TEMPÉRATURE	TEMPÉRATURE	
	DU SOIR : 40°5	DU MATIN : 36°5
35°	»	3,28
36°	»	4,02
36°5	»	[4,38]
37°	2,53	3,80
38°	3,16	3,02
39°	4,09	2,84
40°	4,54	2,70
40°5	[5,00]	»
41°	4,32	»

Il ressort de ces expériences que l'optimum phagocytaire se trouve constamment à la température de l'organisme au moment où les leucocytes sont enlevés.

Un grand nombre d'autres expériences nous ont permis de confirmer ce fait, ainsi qu'on peut le constater, que la défense phagocytaire de l'organisme pendant la fièvre n'est pas réduite à cause de l'élévation de la température.

Il s'ensuit, des tableaux XII à XV, que l'élévation fébrile de la température n'a produit qu'une augmentation insignifiante du maximum phagocytaire.

La même émulsion des microbes étant employée pour servir à la détermination du pouvoir phagocytaire du soir et du lendemain, on pourrait attribuer ce phénomène à une augmentation pendant la nuit de la sensibilité de l'émulsion résultant d'une élévation de l'index phagocytaire. A observer aussi que, généralement, l'index phagocytaire pour toutes les températures est plus élevé le lendemain que le soir précédent.

Pour résoudre cette question nous avons entrepris des déterminations d'une émulsion du *B. coli* dans l'eau physiologique, avant et après un séjour de 18-19 heures à 20°C. Comme il ressort des tableaux XVI et XVII la différence est si petite qu'une variation de la sensibilité n'est guère vraisemblable.

TABLEAU XVI. — Détermination de l'index phagocytaire d'une émulsion de *B. coli* avant et après un séjour à 20°.

TEMPÉRATURE	I		II 19 HEURES APRÈS	
	obs.	calc.	obs.	calc.
3°	1,48	1,55	1,64	1,64
11°	1,84	1,89	2,00	2,00
22°	2,20	2,45	2,20	2,59
36°	3,32	3,32	3,52	3,52
$\mu = 3.950$				

TABLEAU XVII.

TEMPÉRATURE	I		II 18 HEURES APRÈS	
	obs.	calc.	obs.	calc.
10°	1,46	1,47	1,50	1,49
20°	2,00	2,07	1,86	2,07
35°	3,32	3,32	3,38	3,38
$\mu = 5.700$				

Chez un autre malade (tableau XVIII), où la température

TABLEAU XVIII. — Malade fébricitant.

TEMPÉRATURE	TEMPÉRATURE			
	DU SOIR : 38°5		DU MATIN : 37°	
	obs.	calc.	obs.	calc.
0°	0,68	0,68	0,80	0,78
10°	1,12	1,00	1,32	1,15
20°	1,46	1,36	1,70	1,67
30°	2,00	2,08	2,12	2,35
36°	2,36	2,51	2,48	2,86
37°	2,60	2,60	[2,96]	2,96
38°	2,98	2,69	2,32	(3,06)
38°5	[3,50]	2,73	1,64	(3,10)
39°	2,88	"	"	"
40°	2,14	"	"	"
$\mu = 6.140$				

variait de 38°,5 (soir) à 37° (matin), la différence entre les maximums phagocytaires était plus prononcée (3,50-2,96).

Dans les tableaux I, III, XVI, XVII, XVIII on trouve, à côté

des valeurs observées, les valeurs calculées pour l'index phagocytaire. Les constantes μ indiquent les valeurs du coefficient de température qui dans ces expériences varient entre 4.000 et 10.000. Nous n'approfondirons pas la cause possible de ces variations. Une élévation de la température de 10° correspond environ à une augmentation de la phagocytose de 1,3 — 1,85. Ainsi les variations de la température ne jouent pas le même rôle pour la phagocytose que pour le pouvoir bactéricide du sérum, où l'augmentation par degré est environ trois fois plus grande.

*
* *

Après ces expériences sur des animaux à sang chaud il nous parut intéressant d'étudier quelques organismes pœcilothermes à cet égard. Nous disposons de très peu d'expériences seulement sur le pouvoir phagocytaire des globules blancs de la grenouille vis-à-vis des colibacilles et des staphylocoques.

Il ressort du tableau XIX que les variations de l'index phagocytaire à 10° , 25° , 37° et 41° étaient peu sensibles. Ainsi, aucun

TABLEAU XIX. — *Leucocytes de la grenouille.*

Température	Colibacilles	Staphylocoques
10°	2,32	2,74
25°	2,16	3,20
37°	2,34	2,97
41°	2,24	3,14

maximum n'était constaté, la phagocytose étant la même entre 10° et 41° . Ce résultat était assez imprévu, si l'on considère les relations intimes entre la température des pœcilothermes et leur métabolisme. Nous avons recherché comment se comportaient les globules blancs des grenouilles gardées pendant trois jours à différentes températures : 0° , 17° et 37° . Les tableaux

TABLEAU XX. — *Leucocytes d'une grenouille gardée à 0° .*

Température	Colibacilles	Staphylocoques
0°	1,78	2,81
9°	2,04	2,85
17°	2,06	3,06
37°	1,95	2,96

TABLEAU XXI. — *Leucocytes d'une grenouille gardée à 17°.*

Température	Colibacilles	Staphylocoques
0°	2,32	2,50
9°	»	2,66
17°	2,42	2,40
26°	2,47	2,34
27°	2,13	2,54
40°	2,34	2,62

TABLEAU XXII. — *Leucocytes d'une grenouille gardée à 37°.*

Température	Colibacilles	Staphylocoques
0°	2,26	2,70
9°	2,15	2,64
17°	2,34	2,75
37°	2,25	2,52

XX, XXI et XXII montrent que le résultat était le même, le pouvoir phagocytaire restait égal entre 0° et 37° (40°).

RÉSUMÉ.

Chez les homéothermes le pouvoir phagocytaire augmente avec la température, en partant d'environ $+5^{\circ}$ jusqu'à un maximum qui correspond exactement à la température de l'individu dont proviennent les globules blancs.

Ainsi dans des conditions normales le maximum se trouve chez l'homme à environ 37°, chez le cobaye à 39°, chez le coq et le pigeon à 41°.

Une augmentation de la température au-dessus de ce maximum fait diminuer rapidement la phagocytose.

Chez les personnes fébricitantes le maximum phagocytaire suit étroitement les variations de la température.

L'augmentation de la phagocytose avec la température semble suivre la loi de van't Hoff-Arrhenius. Les valeurs de μ varient entre ca. 4.000 et 11.000.

Chez la grenouille un tel optimum n'est pas observé, la phagocytose étant la même à toutes les températures examinées.

ACTION DU SÉRUM ANTIPNEUMOCOCCIQUE
AU COURS DE LA PNEUMONIE
ET DANS LES COMPLICATIONS DE LA GRIPPE

par le Dr Louis CRUVEILHIER.

Si la grippe condamne, la surinfection exécute, a-t-on dit avec raison. Il apparaît de plus en plus, en effet, que les ravages causés dans le monde entier par la grippe sont dus presque toujours à ses complications qui donnent à la maladie une allure spéciale et une gravité particulière. Des diverses complications, celles qui portent sur l'appareil respiratoire sont de beaucoup les plus fréquemment signalées. Parfois, elles déterminent de simples phénomènes de congestion pulmonaire. D'autres fois, on observe les symptômes habituels de la pneumonie. Plus rarement, on rencontre à l'auscultation des noyaux de bronchopneumonie disséminés dans le poumon ou des signes d'œdème pulmonaire. Chez des sujets ayant été antérieurement atteints d'affections de l'appareil respiratoire, la pleurésie purulente serait particulièrement fréquente. Qu'elles se développent seulement dans le tissu pulmonaire même ou qu'elles atteignent la plèvre, les déterminations de la grippe sur l'appareil respiratoire surviennent parfois avec une rapidité déconcertante sans qu'aucun signe précurseur ait pu éveiller l'attention. Elles apparaissent tantôt au début de la maladie, au cours de la période fébrile, tantôt au moment de la défervescence ou encore après quelques jours d'apyrexie, alors que tout danger paraissait conjuré. Elles se signalent dans tous les cas par une brusque ascension de la courbe thermique.

Les constatations, tant bactériologiques qu'anatomo-pathologiques, faites dans le cas de complications pulmonaires de la grippe, amènent à considérer que, quel que soit le germe spécifique de cette maladie, certains microbes, tels que le streptocoque, le pneumobacille et surtout le pneumocoque, auraient

une action capitale dans ses déterminations sur l'appareil respiratoire. En raison du très grand nombre de cas où la présence de ce dernier microbe a été signalée chez les malades atteints de grippe compliquée, le pneumocoque semble jouer un rôle prédominant dans les complications. On comprend donc que nombreux aient été les auteurs qui, comme nous-même, se sont adressés, pour lutter contre les complications respiratoires de la grippe, à la sérothérapie antipneumococcique.

Le sérum antipneumococcique utilisé en France est celui que prépare M. Truche à l'Institut Pasteur. Cet auteur a eu recours pour l'immunisation de ses chevaux à des pneumocoques très virulents isolés de pneumonies humaines et tuant la souris, les uns au dix milliardième de centimètre cube et les autres au millionième. Afin d'obtenir des cultures suffisamment riches, l'auteur a dû employer un milieu spécial qu'il a décrit sous le nom de milieu T, dont la réaction est légèrement alcaline, et qui est constitué par une eau peptonisée à 4 p. 100, salée à 0,5 p. 100 et glucosée à 0,2 p. 100. Ce milieu fournit des cultures pneumococciques d'une abondance tout à fait remarquable. C'est ainsi que le dépôt obtenu par la centrifugation de 10 cent. cubes du milieu en question représente 1 centigr. de matière microbienne vivante. Celle-ci est émulsionnée dans l'alcool absolu auquel on ajoute ensuite une égale quantité d'éther. Lorsque, après vingt-quatre heures, on considère que les pneumocoques sont tués, on décante le mélange alcool-éther, puis on dessèche à l'étuve de Jouan ou dans le vide sulfurique. On obtient ainsi un résidu blanc grisâtre que l'on pulvérise au moyen du broyeur à billes de Blaizot. Cette poudre est conservée ensuite à la température du laboratoire au sec dans un récipient contenant de la chaux vive.

Pour immuniser ses chevaux M. Truche leur injecte tous les jours, pendant dix jours, une quantité donnée de la poudre microbienne émulsionnée dans l'eau physiologique. Il laisse reposer les animaux dix jours et les saigne le onzième, le sérum est alors titré. Si, à la dose de 1/10 de cent. cube, celui-ci n'arrive pas à protéger la souris de 20 grammes contre 1/100

et 1/1000 de cent. cube d'une culture virulente tuant au moins à un millionième, il est rejeté.

Parallèlement au titrage préventif chez la souris, M. Truche fait l'épreuve de l'agglutination et de la déviation du complément. Ce n'est que quand les résultats obtenus chez l'animal sont satisfaisants que le sérum antipneumococcique est livré pour l'utilisation chez l'homme. Le sérum de M. Truche est polyvalent, car il agit sur les trois types de pneumocoques admis tant par cet auteur que par les Anglais et Américains.

C'est par la *voie sous-cutanée* que d'ordinaire le sérum antipneumococcique a été injecté. Les piqûres sont pratiquées à la région antéro-externe de la cuisse ou au niveau des hypochondres, à une certaine distance de la ligne médiane. Les doses injectées diffèrent suivant les auteurs. C'est ainsi que M^r Renon conseille d'injecter le premier et le deuxième jour 40 cent. cubes de sérum antipneumococcique; puis le troisième et le quatrième jour seulement 20 cent. cubes. Le D^r Lassance, dès que les diagnostics clinique et bactériologique sont établis, pratique une injection de 50, 60 ou même 70 cent. cubes de sérum qu'il renouvelle le lendemain, mais à la dose de 40, 30 ou 20 cent. cubes. La dose de 20 cent. cubes de sérum antipneumococcique répétée une ou plusieurs fois, à vingt-quatre heures d'intervalle d'ordinaire, est préconisée par d'autres auteurs qui en ont obtenu d'excellents résultats; il en est ainsi des D^{rs} Pol Vassal, Morel et Dagincourt. Comme ces derniers, le D^r Maurice Perrin de Nancy injectait le plus fréquemment, aux grippés qu'il a traités par la sérothérapie, 20 cent. cubes. Il aurait toutefois injecté 40 cent. cubes dans deux cas et dans deux autres circonstances 60 cent. cubes. Chez un malade atteint de bronchopneumonie grave, il a élevé la dose à 120 cent. cubes de sérum antipneumococcique. Toutes les fois qu'il se trouve en présence d'une bronchopneumonie déclarée, M. Violle injecte, en vingt-quatre heures, 80 ou 100 cent. cubes de sérum et il renouvelle la dose s'il y a lieu. Il admet, en règle générale, que tout grippé doit recevoir 40 cent. cubes, dose qui n'est répétée que si les symptômes pulmonaires ne s'amendent pas. Le D^r Blazy

de Saint-Raphaël a traité 107 pneumoniques auxquels il injectait, par voie sous-cutanée, en moyenne 80 cent. cubes, en une seule fois; dans quelques cas, une seconde injection de 40 à 25 cent. cubes a dû être pratiquée.

Chez un grippé très gravement atteint, M. Dujardin-Beaumetz a obtenu la guérison d'une pneumonie lobaire droite; au moyen de deux injections de 100 cent. cubes de sérum pratiquées à cinq jours d'intervalle. A l'hôpital militaire de Versailles, chez un soldat atteint de pneumonie droite compliquée de pneumonie gauche, puis de pleurésie, l'infection a été conjurée par deux injections de 100 cent. cubes de sérum, la seconde ayant suivi la première de vingt-quatre heures. Pour nous, dans les quelques cas que nous avons eu l'occasion de traiter, nous avons toujours obtenu des résultats satisfaisants en ayant recours aux fortes doses d'emblée variant de 40 à 60, ou même 80 cent. cubes de sérum antipneumococcique. Toutes les fois que l'indication se présentait nous répétions les injections souvent quotidiennement, mais d'ordinaire nous n'employions alors que 30 ou 40 cent. cubes de sérum.

Les divers auteurs qui ont traité des malades par le sérum antipneumococcique sont unanimes à constater son *innocuité* absolue et sa parfaite tolérance. Le Dr Maurice Perrin, dans son rapport à la Société médico-chirurgicale de Bourges, déclare n'avoir pas observé plus souvent de réaction après les fortes doses qu'à la suite des faibles doses de sérum. Il aurait remarqué de plus que les cinq malades albuminuriques qu'il a traités ont parfaitement supporté les injections de sérum; chez aucun d'entre eux l'albuminurie n'a subi de recrudescence.

Afin d'éviter les accidents d'anaphylaxie, la plupart des auteurs ont eu recours à la méthode antianaphylactique de Besredka. C'est ainsi que MM. Violle et Defressine, quatre heures au minimum avant l'injection de sérum, pratiquaient une injection de 1 cent. cube du même sérum sous la peau. Ils donnaient de plus à leurs malades en potion 4 grammes de chlorure de calcium.

Quelques auteurs seulement mentionnent des accidents sériques.

L'urticaire a parfois été constaté trois et quatre jours après l'injection de sérum, comme d'autres fois il n'est apparu, ainsi qu'en témoigne un cas observé par M. Truche, qu'au bout de vingt-six jours. M. Lassance l'a vu persister jusqu'à dix-huit jours, mais d'ordinaire sa durée serait beaucoup moindre. Ce dernier auteur a observé dans six cas une éruption scarlatini-forme typique. Certains malades ont présenté, en même temps que de l'urticaire, des douleurs articulaires le plus souvent peu intenses et de courte durée.

*
*
*

L'action du sérum de M. Truche s'exerce d'abord et principalement sur la *température*. Il semble, ainsi que le fait remarquer le D^r Lassance, que le sérum antipneumococcique agisse comme un véritable antithermique.

M. Renon, comme MM. Pol Vassal, Morel et Dagincourt, n'ont toutefois observé d'abaissement vrai de la température qu'après la seconde ou même la troisième injection. Parfois, comme dans le cas observé par M. Dujardin-Beaumetz, dès le lendemain de la première injection de sérum, on constatait un abaissement de la température, mais celle-ci ne tardait pas à remonter de façon à nécessiter une seconde piqûre. Ce n'est qu'après cette dernière, et cela, suivant les cas, au bout de 33, 48 heures ou davantage, qu'on assistait au début de la défervescence qui s'effectuait en un temps variant de quelques heures à quatre jours et plus. Dans une observation recueillie à l'hôpital militaire de Versailles, trente jours seulement après une seconde injection de sérum, la température est tombée à 37°5. Du fait de cette sorte de précipitation de la défervescence sous l'action du sérum antipneumococcique, le type thermique de la grippe compliquée se trouve modifié de telle sorte que le plateau devient plus court et plus accidenté que dans les cas de grippe compliquée non traitée par le sérum. Il faut noter en outre la suppression constante de l'exacerbation thermique précritique signalée par Wunderlich.

Tous les auteurs qui ont traité des grippés par le sérum de

M. Truche sont unanimes à déclarer que l'action du sérum antipneumococcique s'exerce, autant que sur la température, sur le *pouls* qui suit constamment une marche parallèle à celle de cette dernière. Chaque fois que la température baissait nous avons remarqué, pour notre part, que le pouls devenait moins rapide, mieux frappé et plus ample. Il nous a semblé que d'ordinaire sa réascension précédait celle de la température qu'elle autorisait à prévoir. Aussi avons-nous pris pour règle de conduite de pratiquer une nouvelle injection de sérum antipneumococcique dès que nous observions une accélération du pouls avant même d'attendre l'élévation thermique. Chez la plupart des malades nous avons noté, après la défervescence, une bradycardie manifeste.

En même temps que sous l'influence du sérum antipneumococcique la température s'abaisse et que le pouls est moins accéléré, l'asthénie, si manifeste chez les grippés, devient moins prononcée. *L'état général* s'améliore, le malade éprouve une sensation de mieux-être, la langue redevient humide, la céphalée disparaît avec les phénomènes gastriques. Les urines, dont la quantité au cours de la grippe est parfois diminuée, au point de ne pas atteindre le litre, deviennent plus abondantes et plus claires. Il se produit parfois, ainsi que l'a noté M. Renon, une diurèse de 3 et 4 litres en vingt-quatre heures. Localement, les signes physiques se modifient favorablement. D'autres auteurs, au nombre desquels M. Lassance, admettent que le sérum ne modifie pas les signes d'auscultation. Après une défervescence complète on est étonné de voir persister le souffle et les râles crépitants en même temps que la toux, le point de côté et la dyspnée. L'expectoration nous a paru bien souvent peu modifiée et nullement diminuée. Il semble que « si la maladie pneumococcémique est finie, le poumon n'a pas recouvré l'intégrité de son état anatomique sur lequel l'action du sérum est en réalité très faible ».

*
* *

Un grand nombre de nos confrères sont d'avis, avec MM. Defressine et Violle, qu'on doit attendre surtout du sérum antipneumococcique une *action préventive*. Aussi ont-ils

recours à cette thérapeutique chez tous les grippés, dès que, dans les frottis d'expectoration, on peut déceler la présence du pneumocoque. Ils emploient le sérum antipneumococcique chez les grippés comme on utilise le sérum antitétanique chez les blessés. Ils estiment qu'en intervenant ainsi dès le début de la grippe, on arrive à éviter les complications pulmonaires dues au pneumocoque. Le sérum antipneumococcique fera merveille si les lésions pulmonaires ne sont pas encore déclarées. Si elles sont légères, les injections abortives donneront encore d'excellents résultats; si le malade est en plein état de bronchopneumonie double, le traitement sérique serait plus incertain comme résultat; quoique son action soit encore souvent très bonne et que la guérison ait été obtenue « dans des cas considérés comme désespérés ».

L'action curative du sérum antipneumococcique, bien que plus discutée que son action préventive, n'en est pas moins manifeste. Nombreux sont les auteurs qui ont obtenu d'excellents résultats par son emploi dans des cas de congestion pulmonaire, ainsi qu'en témoignent les observations adressées par MM. Daguin-court et Morel. M. Renon, comme MM. Dujardin-Beaumetz, Maumus, Pol Vassal, Perrin de Nancy, a observé des cas de pneumonie franche aiguë dans lesquels l'efficacité du sérum antipneumococcique a paru certaine. M. Lassance a traité, au moyen du sérum de M. Truche, 71 cas de cette même affection. Or il a eu à déplorer seulement 5 décès, chiffre qui lui a donné une proportion de décès inférieure sensiblement à celle de 12,9 pour 100 qu'il obtenait dans la pneumonie traitée par la médication habituelle.

Le sérum semble avoir agi d'une façon indéniablement favorable sur l'évolution de ces 71 pneumonies, dont 10 auraient évolué en trois jours, 45 en quatre jours, 19 en cinq ou six jours et 10 en sept jours.

A l'hôpital Sénégalais du camp de Fréjus, M. Blazy a traité 107 pneumonies à l'aide du sérum antipneumococcique que lui avait envoyé l'Institut Pasteur de Paris; le nombre des décès a été de 18, soit de 16 p. 100, alors que, chez des pneumoniques traités antérieurement par d'autres moyens thérapeutiques, la mortalité s'était élevée pour une première série à 30 p. 100 et, pour une seconde série, à 32 p. 100.

Au cours de la bronchopneumonie grippale, les résultats que donne la sérothérapie antipneumococcique sont nettement moins favorables et nombreux sont les insuccès rapportés par nos confrères. Nous en avons nous-même observé dans deux circonstances. M. Lassance, à l'hôpital Sainte-Marie de Belfort, a traité 8 bronchopneumonies au moyen du sérum antipneumococcique. L'action de ce dernier se serait montrée absolument nulle; les injections de sérum n'ont pu empêcher la mort d'aucun des malades; elles n'ont même pas semblé exercer une action quelconque sur l'évolution de leur affection. M. Lassance conclut de ses constatations que le sérum agit surtout « quand la toxémie domine et très peu dans les cas de lésions pulmonaires importantes par leur étendue et leur nombre ». Les résultats obtenus par d'autres confrères, tels que le D^r Charles Odier et ceux qui nous ont été rapportés par le directeur du Laboratoire de sérothérapie de guerre, ne sont pas meilleurs.

Toutefois, il est des cas de bronchopneumonie où le sérum antipneumococcique a une action indéniable et le D^r Perrin de Nancy en a rapporté 11 observations qui se sont terminées par la guérison.

Le sérum antipneumococcique exerce une action utile au cours de la pleurésie purulente dont il entraîne la bénignité, d'ordinaire. C'est ainsi que, des 8 pleurésies purulentes traitées par le D^r Lassance, deux seulement se sont terminées par la mort. Chez deux malades observés, l'un par M^{lle} Raphaël et l'autre par le D^r Thibaut, l'injection du sérum a été pratiquée dans la plèvre même après ponction. Dans les deux cas cette intervention a été suivie d'amélioration passagère et de chute de température; mais, devant la réapparition du liquide à l'intérieur de la plèvre, une intervention chirurgicale a été jugée nécessaire; le sérum s'est enfin montré totalement inefficace dans les trois cas qui nous ont été rapportés de symptômes méningitiques au cours de la grippe; toujours la mort est survenue après un temps variable.

Il est bien entendu que le sérum antipneumococcique est efficace non d'une façon générale contre la grippe, mais seulement contre les manifestations pneumococciques de la grippe.

Dans les complications de la grippe dues au streptocoque il ne peut, bien entendu, avoir d'action. Il serait donc désirable qu'on n'ait recours à la sérothérapie antipneumococcique que lorsque, du fait de l'hémoculture, de l'examen du suc pulmonaire ou de la recherche du pneumocoque dans l'expectoration, on a la certitude absolue qu'on a à lutter contre une affection à pneumocoque.

* *

Tous les auteurs qui ont eu recours aux injections sous-cutanées du sérum antipneumococcique de M. Truche sont unanimes à conclure qu'elles sont complètement inoffensives. Les observations que nous avons rapportées suffisent à prouver combien souvent, par la voie sous-cutanée, le sérum antipneumococcique s'est montré efficace dans les déterminations pneumococciques de la grippe.

Toutefois, devant des insuccès, rencontrés pour la plupart dans des cas de bronchopneumonie, beaucoup d'auteurs ont pensé, avec MM. Joltrain et Bauffle, que la sérothérapie antipneumococcique constitue « une méthode sur laquelle on ne peut encore fonder de solides espérances ». Ils sont donc d'avis, ainsi que le conseille M. Renon, d'adjoindre au sérum antipneumococcique d'autres procédés de traitement, comme l'huile camphrée à hautes doses, les injections de rhodium ou d'argent colloïdal, la digitale et les enveloppements humides du thorax.

Il devient de la sorte, on le conçoit, particulièrement difficile de faire la part exacte du sérum et celle des autres médications dans les succès obtenus au cours des déterminations pneumococciques de la grippe. Ainsi s'explique que la plupart des auteurs qui nous ont adressé des observations ne formulent que des affirmations prudentes et réservées concernant l'action utile du sérum de M. Truche.

* *

Nous avons recherché si par la voie veineuse nous n'obtiendrions pas des résultats préférables à ceux qu'ont donnés aux auteurs précités les injections sous-cutanées de sérum antipneumococcique. Nous avons employé d'ordinaire d'emblée

20 cent. cubes, mais quelquefois seulement 10 cent. cubes de sérum antipneumococcique. Ce dernier a toujours été dilué dans au moins dix fois son volume d'eau physiologique, de telle sorte que la quantité de liquide injecté était de 100 à 200 cent. cubes. Il nous a paru nécessaire de faire pénétrer le sérum ainsi dilué, puis tiédi au préalable, sous une pression faible et de régler la vitesse de l'écoulement de telle sorte qu'au moins durant les cinq premières minutes, régulière et sans à-coups, elle n'excède pas 10 cent. cubes à la minute, soit 200 cent. cubes en vingt minutes.

Cette durée peut être réduite facilement à 1/4 d'heure à condition de n'augmenter la vitesse de l'injection qu'après un certain temps. Le point capital, nous a-t-il semblé, est que les premières gouttes de sérum pénètrent diluées et goutte à goutte dans la veine. Tant par ce mode de pénétration du sérum dans la veine que par sa dilution, nous pensons établir chez nos malades une immunité antianaphylactique; celle-ci étant, comme l'a montré Besredka, acquise instantanément quand il s'agit de la voie veineuse.

L'appareil dont nous nous sommes servi est constitué par une ampoule ou allonge en verre de forme ovale contenant environ 250 ou 300 cent. cubes et graduée extérieurement de telle sorte que chaque division corresponde à 10 cent. cubes de liquide.

Il est préférable que l'extrémité supérieure de l'ampoule qui doit être ouverte lors du fonctionnement de l'appareil, afin de permettre la pression de l'air sur le liquide, soit recourbée en col de cygne.

À l'extrémité inférieure de l'ampoule est adapté un tube de caoutchouc long de 1^m50 environ, terminé par une aiguille d'un calibre assez fort; nous nous servons d'habitude du type d'aiguille dit à ponction lombaire. On règle la rapidité d'écoulement du sérum en élevant plus ou moins l'ampoule au-dessus du plan du lit, et mieux, à l'aide d'une pince à vis telle que celle dite « à lames parallèles et à charnière pour burette de Mohr ».

*
* *

En opérant de la sorte, nous n'avons jamais éprouvé d'action

défavorable du fait de l'emploi par la voie veineuse du sérum antipneumococcique de M. Truche. Jamais nous n'avons noté le moindre malaise durant l'injection, mais, au contraire, la plupart des malades ont accusé une sensation de bien-être et d'euphorie très caractéristique. Les accidents sériques ont été exceptionnels et, une seule fois, nous avons observé de l'urticaire quatre jours après l'injection. L'introduction par la voie veineuse du sérum antipneumococcique nous a permis d'obtenir un abaissement de la température plus marqué et plus brusque que la voie sous-cutanée. Cette action sur la température a été obtenue non plus seulement à la suite de la seconde piqûre, mais très rapidement dans les heures qui suivent la première, soit comme maximum au bout de trente-six ou quarante-huit heures. Ce n'est qu'exceptionnellement, en dehors des cas de bronchopneumonie, que nous avons assisté à une recrudescence de la température, qui ne tardait du reste pas à tomber à nouveau sous l'influence d'une nouvelle injection intraveineuse de sérum.

Constamment nous avons observé par cette voie une influence plus rapide sur le pouls qui, comme précédemment, est toujours tombé en même temps que la température descendait. Toutefois, dans les cas de grippe compliquée de pneumonie à caractère particulièrement grave où nous sommes intervenu, il nous a semblé que l'influence du sérum introduit par la voie veineuse était manifeste sur le pouls avant que de l'être vis-à-vis de la température. Alors que celle-ci était encore à 39°5 ou 40°, déjà le pouls, moins dépressible et plus régulier, marquait 90 ou seulement 80. En même temps, l'auscultation dénonçait un assourdissement moins prononcé des bruits du cœur, et à l'oscillomètre on notait une élévation de la tension artérielle en même temps qu'un plus grand écart entre les tensions maxima et minima.

Parallèlement à cette dissociation du pouls et de la température, nous avons noté une polyurie abondante et des sueurs profuses. L'auscultation nous a permis de percevoir une atténuation du souffle tubaire avec diminution de la dyspnée et de l'expectoration. Les râles crépitants devenaient d'ordinaire rapidement moins secs. Seule, la toux persistait quelquefois assez longtemps.

*
*

Nous avons traité au moyen du sérum antipneumococcique introduit par la voie veineuse 21 malades considérés comme atteints de grippe particulièrement grave, eu égard à l'élévation de la température, à la petitesse du pouls, à l'état général et, le plus ordinairement, à l'importance des signes stéthoscopiques.

Quatre parmi ces malades, qui, avec de la fièvre et des réactions nerveuses accentuées, présentaient des symptômes de rhino-pharyngo-trachéite, ont reçu du sérum antipneumococcique à titre préventif, alors que nous n'étions averti de la participation du pneumocoque à l'infection que par sa présence dans l'expectoration. Nous n'avons constaté chez aucun de localisations pulmonaires dans la suite et la maladie s'est constamment arrêtée à cette première phase de l'infection.

Quatorze de nos malades étaient atteints de manifestations graves de la grippe sur l'appareil respiratoire dont nous avons pu le plus ordinairement, afin de n'agir qu'à bon escient, mettre en évidence la nature pneumococcique du fait d'un prélèvement au foyer même par ponction suivie d'examen du liquide puis de sa culture.

Trois sujets présentaient des symptômes de congestion du poulmon perceptibles aux deux bases, pour deux d'entre eux. Chez quatre autres l'auscultation révélait des signes de pneumonie double. Ces sept malades se sont rétablis plus ou moins rapidement, mais complètement; la fièvre, qui, avant notre intervention, continuait à évoluer, malgré toutes les médications, a cédé rapidement aux injections intraveineuses de sérum et ne s'est pas rallumée, de sorte qu'en aucun cas nous n'avons été contraint de renouveler les injections.

La plupart des auteurs qui ont eu recours au sérum antipneumococcique introduit par la voie sous-cutanée déclarent avoir éprouvé des insuccès fréquents; nous l'avons vu, au cours de la bronchopneumonie grippale. Il nous a donc paru particulièrement intéressant d'essayer dans cette manifestation de la grippe l'action des injections intraveineuses. Nous avons pu suivre l'évolution de la bronchopneumonie chez 4 grippés qui présentaient à l'auscultation des petits foyers de broncho-

pneumonie disséminés dans les deux poumons. Or tous nos malades ont guéri. Ils gardèrent seulement, durant un temps assez long mais variable, une asthénie profonde, signature d'une infection sérieuse.

Parfois la défervescence s'est effectuée brusquement comme dans la pneumonie et chez un de nos malades, en quarante-huit heures, la température est tombée de 40°6 à 36°6. Chez un autre le thermomètre, qui marquait le jour de la piqure de sérum 40°4, n'indiquait plus le lendemain que 37°3.

Une autre fois la défervescence s'est faite en lysis, n'atteignant la normale qu'après cinq jours. Notre dernier malade, enfin, n'a effectué de chute complète de température qu'après une troisième injection, et, six jours seulement après cette dernière, le thermomètre ne s'élevait pas au-dessus de 37°4. Il est à noter que chez trois de ces malades la ponction pulmonaire, pratiquée dans le but d'ensemencer le suc pulmonaire, a révélé la présence d'une inflammation pleurale avec épanchement séreux.

Nous avons observé deux malades qui présentaient des réactions du côté de la plèvre avec épanchement purulent. Cette complication, même quand elle relève du pneumocoque, comporte toujours un pronostic grave. Ces deux pleurésies purulentes ont cependant évolué favorablement, mais tandis que l'une a nécessité une intervention chirurgicale, l'autre s'est terminée spontanément par simple résolution.

Nous sommes intervenu dans un cas particulièrement grave de grippe au cours de laquelle étaient apparus des signes de méningite. La présence du pneumocoque ayant été décelée dans le liquide louche recueilli par ponction lombaire, nous avons pratiqué une injection du sérum antipneumococcique que nous répétions cinq jours après.

Devant le peu d'action de ces interventions sur les phénomènes méningés et sur la température qui restait au-dessus de 39°, nous avons eu recours à la voie veineuse et à quarante-huit heures d'intervalle nous avons injecté par deux fois 200 cent. cubes de sérum dilué.

Dès le lendemain de l'injection intraveineuse, la raideur de la nuque et le signe de Kernig, très nets chez le malade, étaient à peine perceptibles. La céphalée avait presque totalement disparu.

Nous avons traité en outre de ces malades deux autres sujets au moyen d'injections intraveineuses de sérum antipneumococcique, l'un sur sa demande et l'autre à la prière d'un de nos confrères.

Ces malades, dont l'un avait été intoxiqué par les gaz et présentait des symptômes de congestion pulmonaire et dont l'autre déjà âgé présentait l'aspect cyanotique caractéristique de l'œdème suraigu du poumon, ont succombé peu de temps après l'intervention qu'ils ont toutefois très bien supportée.

*
* *

Par l'étude des quelques grippés qu'il nous a été donné de suivre et par l'examen des multiples observations qui nous ont été fournies par nos confrères, nous nous croyons autorisé à affirmer que le sérum antipneumococcique de M. Truche est susceptible d'exercer une influence favorable sur l'évolution de l'infection grippale, et plus particulièrement de ses manifestations pneumococciques. Dans tous les cas où le pneumocoque est en jeu, son emploi est indiqué.

Nous pensons en outre que la voie veineuse, qui constamment nous a donné des résultats meilleurs que la voie sous-cutanée, est susceptible de faire produire à l'anticorps spécifique son maximum d'effet utile. Elle constituerait ainsi une ressource thérapeutique précieuse.

LE CONTRÔLE BACTÉRIOLOGIQUE ET HYGIÉNIQUE DES LAITS

MÉTHODES EMPLOYÉES ET APPRÉCIATION DES RÉSULTATS

par H. KUFFERATH,

Docteur en Sciences, Ingénieur agricole (Gembloux),
Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Bruxelles,
Chef du service microscopique et bactériologique
au Laboratoire intercommunal de Bruxelles.

(Travail du Laboratoire intercommunal de Chimie et de Bactériologie
de l'Agglomération bruxelloise et de l'Institut Pasteur de Bruxelles.)

M. Delange, directeur du Laboratoire intercommunal de Bruxelles, a bien voulu nous charger d'étudier la question de l'analyse bactériologique du lait et d'établir la technique de cette analyse. Depuis bientôt quatre ans, cette question a fait l'objet de nos préoccupations constantes, et, comme les méthodes d'analyse bactériologique des laits ne sont pas encore appliquées d'une façon courante en Belgique, nous avons cru nécessaire et utile de consigner nos observations sur la matière. Nous ne pouvons évidemment espérer avoir résolu complètement le problème, mais, tels qu'ils sont, les résultats obtenus donnent toute satisfaction et permettent de se faire une idée assez parfaite de la valeur hygiénique et bactériologique d'un lait. Notre but est de préciser les méthodes de manière à fournir aux Laboratoires d'analyses un guide suffisamment complet pour arriver à une entente au sujet des procédés analytiques à mettre en œuvre. Nous croyons par là même rendre service aux industriels laitiers qui trouveront dans l'analyse bactériologique un guide sûr pour leur industrie. Nous sommes arrivé à cette conviction grâce au fait d'avoir pu suivre, dans les vacheries du Département « Laiteries » de la Coopérative de Secours et

d'Alimentation de l'Agglomération Bruxelloise (Comité national), le travail du lait (1).

Nous estimons avantageux de faire connaître les procédés d'analyse employés, car la chimie ne fournit qu'une partie des renseignements utiles sur le lait. Pour le médecin, pour l'hygiéniste, il est certainement utile de connaître la composition du lait en matière grasse, la densité, le degré de mouillage, etc., mais la chimie ne peut indiquer ce que vaut le lait au point de vue de la santé du consommateur et de la salubrité publique. Il est, en effet, indispensable de savoir si le lait renferme des germes pathogènes; s'il renferme de nombreux microbes qui, en effet, l'altèrent rapidement. Pour répondre à ces *desiderata*, la chimie est impuissante, seule la bactériologie peut fournir un certain nombre de renseignements utiles.

Les résultats de l'examen bactériologique et hygiénique du lait sont basés sur un certain nombre d'essais, que nous détaillerons plus loin. Ce n'est, en général que l'ensemble de ces essais qui puisse donner un aperçu convenable de la valeur du lait. Or, il est important que le résultat de l'analyse soit promptement connu. Il y a, par suite, des méthodes de recherches à écarter, ce sont celles qui demandent trop de temps pour être *manifestes*. La pratique que nous avons pu acquérir de ces analyses nous a indiqué les méthodes à rejeter et celles à maintenir. Nous ne donnons dans la présente note que celles qui nous ont donné toute satisfaction, autant en ce qui concerne la rapidité que la précision des résultats. Il y aura lieu plus tard de les compléter et de les perfectionner.

Les essais portent sur : la numération des germes sur gélose et gélatine, la quantité de leucocytes, l'épreuve de la catalase, l'épreuve de la réductase, la fermentation du lait à 37°C, la recherche des germes défavorables ou dangereux : *B. coli*, bacille tuberculeux, streptocoques, l'examen direct du lait et du dépôt de centrifugation, l'identification éventuelle de germes isolés. La plupart de ces méthodes ont été traitées dans le *Précis de Bactériologie agricole et de Technique expé-*

(1) H. KUFFERATH, Le contrôle bactériologique des laits de la laiterie de Nérom. *Bulletin mensuel de la Commission permanente du lait*, 1916, vol. V p. 9-20.

rimendale de LÖHNIS, que nous avons traduit. Cela nous dispensera de donner des explications trop longues. Nous nous attacherons surtout à préciser certains points de détail et à exposer les méthodes d'évaluation des résultats.

NUMÉRATION DES GERMES SUR GÉLOSE.

Nous nous contenterons de faire des dilutions de $1/10$ et d'environ $1/600$ à $1/1.000$. Exceptionnellement, pour les laits vendus comme stérilisés ou pasteurisés, nous ensemençons 1 cent. cube de lait, ces laits ne renfermant que quelques germes par centimètre cube, s'ils ne sont pas stériles. Pour les laits ordinaires du commerce, il faut faire des dilutions plus fortes : $1/10.000$ à $1/100.000$ au moins.

On fait les numérations en plaques de Petri où l'on coule la gélose ordinaire au bouillon, d'usage courant dans tous les laboratoires bactériologiques. Nous n'avons pas employé jusqu'ici la gélose au petit-lait, nous pensons que ce n'est pas nécessaire.

Quand la gélose est figée, on place les plaques de Petri retournées à l'étuve à $37-38^{\circ}\text{C}$ pendant trois jours ; chaque jour, on fait la numération des germes qui ont poussé ; on note dans le protocole d'analyse le nombre de germes ayant poussé après trois jours, ainsi que le nombre d'espèces différentes de germes qui se sont développés en culture. Un examen microscopique et l'isolement des colonies microbiennes peuvent compléter ces indications ; mais on peut se passer de faire ces recherches qui demandent du temps et qui ne fournissent pas des renseignements suffisants dans la grande majorité des cas. La détermination du nombre d'espèces de germes se fait aisément par l'examen microscopique des colonies. Les laits stérilisés et pasteurisés ne doivent renfermer qu'une ou deux espèces de germes, ceux-ci sont généralement sporulés. On constate souvent dans ces laits la présence de diverses races de *Bac. subtilis* et des variétés du *Bac. mesentericus*. Les laits crus aseptiques ne doivent renfermer qu'un petit nombre de germes, ces germes étant d'espèces variées, de quatre à six souvent. Dans les laits crus aseptiques mal traités, dans les laits commerciaux, il arrive souvent qu'il y ait de nombreuses colonies d'une espèce domi-

nante, ce caractère est défavorable. Il en est de même si le nombre d'espèces est exagéré et dépasse six à sept sortes.

Le procédé de numération des colonies ayant poussé sur gélose à 37°C ne représente pas le nombre réel de germes se trouvant dans le lait. Il est de règle générale que les nombres de microbes sur gélose sont moindres que ceux sur gélatine. Si l'on se base, comme nous le faisons, sur les numérations sur gélose au bouillon pour évaluer le nombre de germes d'un lait, on commet certainement une erreur en attribuant au chiffre trouvé une valeur absolue. En pratique, ces numérations, inférieures à la réalité, constituent un avantage pour ceux qui se soumettent au contrôle bactériologique. Lorsque le bactériologiste condamne donc un lait parce qu'il renferme un nombre trop élevé de germes, c'est en toute connaissance de cause et avec pleine assurance. Nous avons proposé (1) pour les laits crus aseptiques un maximum de 50.000 germes par centimètre cube. Nos analyses, à Nérom, nous ont démontré que ce maximum toléré est parfaitement compatible avec les conditions de traite scientifique réalisables dans la pratique. Nous proposons également de fixer, pour les laits stérilisés, pasteurisés, les laits destinés aux nourrissons, un maximum de 50.000 germes par centimètre cube. Les limites ainsi fixées sont suffisamment étendues pour ne pas entraver le commerce des laitiers consciencieux, commerce qui doit au contraire être protégé et garanti pour l'excellence de la marchandise fournie.

NUMÉRATIONS SUR GÉLATINE.

Elles se font d'après les mêmes principes et la même technique que pour les cultures sur gélose. Nous trouvons avantage à utiliser pour ces cultures des plaques de Petri de grand modèle, de 12 et 15 centimètres de diamètre, au lieu des plaques ordinaires de 10 centimètres de diamètre. La quantité de gélatine nécessaire par plaque est de 10 cent. cubes environ.

(1) H. KUFFERATH, Enquête bactériologique sur les laits crus aseptiques débités à Bruxelles. *Annales de Gembloux*, août 1914; *Bulletin de la Commission permanente du lait*, 1916, vol. V, p. 1-9.

On note le nombre des colonies et le nombre de jours après lesquels la numération a été faite. On tient compte aussi du nombre d'espèces de germes, de leur nature (bacilles fluorescents, moisissures, levures), accessoirement du nombre de microbes liquéfiant, bien que cette dernière donnée n'ait pas grand intérêt pour le contrôle bactériologique.

Les numérations sur gélatine serviront de contrôle pour les numérations sur gélose. Elles ont l'inconvénient d'être lentes, les résultats de culture ne pouvant être obtenus qu'après une dizaine de jours. Nous avons vu qu'en trois jours, les résultats des cultures sur gélose à 37° étaient acquis. Un autre inconvénient des cultures sur gélatine est le développement des microbes liquéfiant, qui, en s'étendant, peuvent empêcher toute numération. Souvent on observe que sur gélatine le nombre d'espèces cultivées est plus grand que sur gélose. Les remarques présentées ci-dessus au sujet du nombre d'espèces de germes sur gélose sont valables pour les cultures sur gélatine. La présence du *Bacille fluorescens liquefaciens*, d'espèces chromogènes telles que *Bact. prodigiosum*, *Bact. violaceum*, etc., est considérée comme un facteur défavorable à cause des altérations que ces microbes peuvent produire dans le lait (lait rouge, violet, bleu, etc.) s'ils sont trop abondants.

RECHERCHE DES LEUCOCYTES.

Cette recherche est des plus importantes. Nous l'avons introduite systématiquement dans le contrôle des Vacheries du Comité National de l'Agglomération bruxelloise, où elle nous a donné les renseignements les plus précieux pour le contrôle du bon fonctionnement du pis. Normalement, le lait ne renferme qu'un petit nombre de leucocytes : environ 0,1 à 0,5 p. 1.000. Dès qu'il se produit une inflammation dans le pis (Mammite streptococcique, le plus souvent) le nombre des leucocytes augmente. Quand il y a 1 à 2 p. 1.000 de leucocytes dans le dépôt obtenu par centrifugation dans un tube spécial tel que celui de Trommsdorff (1), le lait est suspect, la vache qui le produit doit être isolée et examinée par le vétérinaire.

(1) Voir LÖHNIS, Précis de Bactériologie agricole et de Technique expérimentale (traduit par H. Kufferath). Lamartin. Bruxelles, 1912 p. 78.

A différentes reprises, nous avons ainsi pu, grâce à la recherche des leucocytes, signaler des mammites au début, qui furent facilement traitées et enrayées. Lorsque le dépôt leucocytaire est important, l'examen numérique du dépôt doit toujours être complété par l'examen microscopique. Pour cela, on prélève avec une pipette de verre le dépôt, que l'on étale sur une lame de verre. Après fixation de la préparation, on colore comme pour la recherche du bacille tuberculeux par coloration à la fuchsine phéniquée (1), décoloration à l'acide nitrique à 25 p. 100 et à l'alcool, puis coloration au bleu de méthylène phéniqué (1).

On peut simplifier le mode de décoloration, en plongeant les préparations colorées à la fuchsine dans de l'alcool acide (100 parties d'alcool ordinaire et 3 parties d'acide chlorhydrique concentré), puis en colorant au bleu de méthylène après lavage à l'eau. La méthode de recherche du bacille tuberculeux d'après la technique du Dr Herman est aussi excellente.

Les préparations colorées seront examinées et l'on y recherchera le bacille tuberculeux, le streptocoque pyogène et les autres espèces pathogènes.

L'inoculation aux cobayes sera faite dans les cas douteux ou intéressants. La présence de germes pathogènes indiquera au laitier qu'il doit écarter le lait dangereux de la consommation. Ce lait ne pourra, dans aucun cas, servir à l'alimentation humaine. Aussi comprend-on la nécessité et l'utilité de la recherche des leucocytes. Des tubes de Trommsdorff sont calibrés pour 10 cent. cubes de lait. Ce modèle présente des inconvénients, il est très fragile. Nous avons fait connaître (2) un nouveau modèle de tubes pour leucocytes qui est d'emploi plus pratique. Un inconvénient des tubes de Trommsdorff est que la lecture du dépôt n'est pas toujours aisée. Nous en reparlerons plus tard. Malgré ses imperfections et ses petits défauts, la technique de la recherche des leucocytes par la méthode de Trommsdorff mérite d'être plus connue et plus utilisée qu'elle ne l'a été jusqu'ici. Le contrôle vétérinaire en tirera des ensei-

(1) Pour la composition de ces colorants consultez les notes que nous avons ajoutées dans l'ouvrage cité de Löhnis, aux pages 158 et 159.

(2) A propos de la recherche des leucocytes dans le lait. Ces *Annales*, t. XXIII. p. 420-424, juin 1919.

gnements précis. Il arrive parfois que le dépôt leucocytaire présente une teinte rouge, due à la présence de sang dans le lait, soit à cause de la rupture d'un vaisseau sanguin, soit par des lésions traumatiques graves. La présence de sang dans le lait est un caractère défavorable. On notera aussi le degré de saleté du lait. Certains laits commerciaux donnent un dépôt boueux verdâtre indiquant l'absence de tout soin à la traite.

ESSAI DE LA CATALASE (1).

Pour faire cet essai, on ajoute à 15 cent. cubes de lait 5 cent. cubes d'eau oxygénée à 1 ou 2 p. 100. De nombreux appareils plus ou moins compliqués ont été proposés. Ils ne sont pas pratiques pour des recherches suivies et nombreuses. Nous avons adopté au Laboratoire intercommunal un dispositif simple qui donne toute satisfaction. On met 15 cent. cubes de lait à essayer dans un tube à centrifuge de 2 centimètres de diamètre. Ce tube est placé dans une étagère adéquate en bois ou en métal immergée dans de l'eau.

On y ajoute 5 cent. cubes d'eau oxygénée et l'on ferme immédiatement avec un bouchon en caoutchouc muni d'un tube en S plongeant sous l'eau par une de ses extrémités sur laquelle on place un tube à essai ordinaire rempli d'eau. On peut graduer soi-même le tube à essai en centimètres cubes.

L'oxygène dégagé par la réaction s'accumule dans le tube à essai, on note après deux heures et après vingt-quatre heures la quantité d'oxygène dégagé à la température de 18-20°C.

Pour les laits crus aseptiques et les laits ordinaires, le dégagement d'oxygène ne doit pas dépasser 3,5 cent. cubes (après deux à trois heures le plus souvent, il n'y a aucun dégagement d'oxygène). Il y a des laits, surtout le laitcolostral, les laits infectieux (mammites) et les laits riches en microbes qui donnent un dégagement plus abondant de gaz. C'est un caractère défavorable dont il faut tenir compte dans l'appréciation de la valeur d'un lait. Les laits pasteurisés et stérilisés ne doivent pas donner la réaction de la catalase. S'ils la donnent, c'est que la pasteurisation et la stérilisation ne sont pas effectives ou qu'il y a développement abondant de microbes par suite de

(1) Voir l'ouvrage de LÖNNIS déjà cité.

mauvaise conservation du lait. Dans les deux cas, le lait sera déclaré non conforme aux indications commerciales fournies par les laitiers.

RECHERCHE DU B. COLI ET DES MICROBES PATHOGENES.

Nous avons déjà indiqué que l'on recherche le bacille tuberculeux, le streptocoque par examen microscopique du dépôt de centrifugation. La présence de ces germes dangereux et mortels fera condamner le lait et en interdire la vente, pour raison de salubrité publique.

La recherche du B. coli a aussi son importance. On sait que ce microbe se trouve dans les intestins et les excréments des animaux et de l'homme. C'est un microbe banal qui peut devenir virulent et dangereux pour la santé. Il y a donc lieu de le rechercher ; d'autant plus les essais minutieux que nous avons personnellement faits dans les vacheries du Comité national à Nérom et à Boitsfort indiquent qu'on ne trouve jamais de B. coli dans les laits traités proprement. C'est à ce titre que la recherche du B. coli nous a servi à apprécier la propreté de la traite et à contrôler le travail du personnel chargé de la traite. Un lait cru aseptique bien récolté ne doit pas renfermer le B. coli, aussi la présence de ce microbe doit-elle être considérée comme défavorable, le lait étant destiné à être utilisé directement par les enfants et les malades. A plus forte raison ne doit-on pas trouver de B. coli dans les laits stérilisés et pasteurisés. Pour les laits ordinaires, la présence de B. coli est également défavorable. Le nombre des B. coli a évidemment une importance, mais on ne possède pas actuellement de méthode suffisamment pratique et commode pour ce genre de numération. Le B. coli produit la fermentation du lactose. Nous admettons que les laits mis à 37°C qui ne donnent pas de production de bulles gazeuses, tout en renfermant du B. coli, ne sont que faiblement contaminés. Il y a par suite lieu de tenir compte de ces constatations. Rappelons que, dans les analyses d'eau, le B. coli est considéré comme indice grave de pollution de la nappe aquifère et suffit pour l'écarter de la consommation humaine, ou du moins à rendre l'eau suspecte.

Nous avons donné la méthode de recherche du *B. coli* dans les eaux (1) et dans le lait (2), nous n'avons rien à ajouter aux indications que nous avons fournies à ce sujet.

Nous avons examiné jusqu'à maintenant les quatre recherches les plus importantes pour l'analyse des laits. Elles sont complétées par des essais de moindre valeur absolue, mais qui pourtant fournissent rapidement quelques renseignements importants relatifs aux qualités hygiéniques et bactériologiques du lait. Ces recherches sont celles de la réductase, de la fermentation, l'examen des préparations directes et l'identification des germes.

ÉPREUVE DE LA RÉDUCTASE.

Le principe de cette épreuve a été indiqué par le grand savant français Duclaux. Il consiste à ajouter à une quantité connue de lait (20 cent. cubes) une substance colorante qui se réduit facilement.

Depuis les expériences de Jensen, on préfère utiliser le bleu de méthylène.

La solution de bleu de méthylène que nous employons est composée comme suit :

Bleu de méthylène	1 gramme.
Alcool absolu	20 cent. cubes.
Eau distillée	20 cent. cubes.

On verse, au moyen d'un flacon compte-gouttes, 5 gouttes de la solution bleue dans un tube stérile bouché à l'ouate. On y ajoute ensuite stérilement 20 cent. cubes du lait à évaporer.

Le mélange se fait ainsi très facilement, beaucoup mieux que si l'on met d'abord le lait dans le tube et qu'on y verse ensuite le bleu. On marque à l'aide d'un crayon à écrire sur le verre la hauteur du liquide dans le tube, que l'on plonge dans un bain-marie chauffé à 45° environ.

Les laits stérilisés, pasteurisés, les laits crus aseptiques parfaits, ne réduisent pas le bleu ou s'ils le réduisent, c'est

(1) Voir LÖNNIS. Ouvrage cité, p. 87, note.

(2) H. KUFFERATH, Enquête bactériologique sur les laits crus aseptiques débités à Bruxelles. Ouvrage cité.

après plusieurs jours (de six à quinze jours). Les laits de qualité moindre réduisent beaucoup plus vite le bleu, d'autant plus vite qu'ils sont plus mauvais.

D'après Jensen, le lait est :

De qualité très mauvaise quand il réduit le bleu en moins d'un quart d'heure ;

De qualité mauvaise quand il réduit le bleu en un quart d'heure à deux heures ;

De qualité moyenne quand il réduit le bleu en deux à six heures ;

De qualité bonne quand il réduit le bleu après six heures.

Nous ne voyons pas d'inconvénient à suivre ces données qui sont consacrées par la pratique. Nos essais nous permettent de compléter ce tableau, d'apprécier et de déclarer le lait :

De qualité très bonne quand il réduit le bleu après vingt-quatre heures ;

De qualité irréprochable, quand il réduit le bleu après cinq à six jours ou plus.

L'étude des phénomènes qui se produisent lors de la réduction du bleu de méthylène par le lait est peu avancée. Les quelques remarques suivantes permettront de se faire une idée des avantages à retirer de ce mode de recherche.

Dans quelques cas, nous avons observé une fermentation tumultueuse, la production de bulles gazeuses : ce caractère est défavorable et doit faire diminuer la valeur du lait.

Un phénomène que nous n'avons trouvé signalé nulle part est celui de la coagulation qui suit après un temps plus ou moins long la décoloration du bleu de méthylène. L'aspect du caillot donne des indications suivant qu'il est *déposé*, compact, solide, gélatineux, grenu, dilacéré. Dans les laits mauvais, le caillot, percé de trous nombreux, forme un bouchon qui vient flotter à la surface du liquide.

La graisse du lait se comporte à l'égard du bleu de méthylène autrement que le reste du lait. Au début elle se décolore, devient blanche. Plus tard, quand le lait est décoloré, on remarque que la graisse se colore en bleu et reste colorée. Elle se comporte donc tout différemment que le lait dépourvu de graisse. La manière dont le lait se décolore varie très fort.

Pour les laits très mauvais, on voit la masse entière du

liquide pâlir et devenir blanche. La décoloration se fait autrement dans les laits de meilleure qualité. Suivant les cas, la décoloration commence par le bas (c'est le cas le plus général), par le haut ou aux deux extrémités de la colonne liquide.

Rarement on voit le lait se décolorer au milieu ou sillonné de stries blanches qui s'étendent petit à petit. Normalement la décoloration, commencée en un point, se poursuit de proche en proche et finit par intéresser toute la masse du liquide. C'est à ce moment que nous notons que la décoloration est complète, que le phénomène de la réduction est achevé. C'est un des moments cardinaux de l'action de la réductase. A partir de ce moment, le lait reste blanc (sauf la couche de graisse, dont on ne tiendra pas compte bien qu'elle soit bleue); il reste liquide pendant un temps variable, puis il coagule. Un mauvais lait coagule rapidement, un bon lait coagule lentement. L'aspect du caillot formé donne des indications sur la marche normale ou anormale de la coagulation.

Enfin, pour terminer ce qui est relatif à l'étude des phénomènes consécutifs à l'action de la réductase, signalons qu'il se forme une quantité plus ou moins abondante de sérum. Ce sérum est incolore, limpide; dans certaines circonstances que nous nous proposons d'étudier, le sérum, tout en restant limpide, prend une teinte bleue plus ou moins intense, tandis que le caillot de caséine reste blanc.

La quantité de sérum produite varie suivant le mode de traitement du lait. Alors que, pour les laits ordinaires crus aseptiques, la quantité de sérum est de 14 à 19 cent. cubes pour 20 cent. cubes de lait, on observe couramment que les laits pasteurisés et stérilisés convenablement donnent des quantités bien inférieures de sérum (moins de 10 cent. cubes, souvent de 3 à 5 cent. cubes). Pour mesurer la quantité de sérum, on rétablit avec de l'eau le niveau indiqué au crayon à marquer le verre et l'on mesure dans une éprouvette graduée la quantité de sérum qui s'écoule. On pourrait évidemment opérer autrement, en pipettant le sérum. Mais dans la pratique courante, si l'on a de nombreux essais à examiner, on peut se passer de cette technique plus parfaite. Il est donc possible de constater par la quantité de sérum produite si un lait a été chauffé suffisamment ou non. C'est là un renseignement qui

peut être utile à comparer avec ceux que fournissent la catalase, la fermentation, l'examen des plaques de culture et l'étude des germes du lait. Il ne faut donc pas le dédaigner, car il apporte un indice de plus d'une opération subie par le lait.

FERMENTATION DU LAIT A 37°C.

Löhnis (ouvrage cité, page 83) signale une épreuve de fermentation faite à 40°. Il donne quelques indications sur les essais. L'expérience nous a enseigné qu'il n'est pas nécessaire d'employer le dispositif décrit par Löhnis et que l'on peut beaucoup simplifier la technique. Il suffit de procéder comme suit : on introduit à l'aide d'une pipette stérile 20 cent. cubes du lait à examiner dans un tube à essai stérile que l'on place à l'étuve bactériologique à 37°C. La coagulation se fait plus ou moins rapidement. Voyons ce qu'il en est, sans nous occuper pour le moment de la manière dont se fait la coagulation. Les laits stérilisés, pasteurisés, les laits crus aseptiques irréprochables, coagulent lentement, après quarante-huit heures ou plus; parfois, on n'observe pas de coagulation. Les laits de mauvaise qualité coagulent en six à neuf heures, parfois plus rapidement. Les laits de qualité moyenne coagulent environ en vingt-quatre heures (vingt à vingt-neuf heures). Ces données sont fournies pour préciser les idées.

L'aspect du caillot formé varie suivant diverses circonstances. Les bons laits coagulent d'une façon homogène, le caillot est gélatineux, plus ou moins consistant. Au contraire, les mauvais laits présentent un caillot dilacéré, déchiré, plus ou moins abondant, souvent il y a production de bulles gazeuses (présence du *B. coli*, du bacille aérogène, de certaines variétés de *Bacillus subtilis* produisant des odeurs de fromage). Entre ces deux extrêmes, il y a de nombreuses transitions, la description de l'aspect du caillot formé peut certes faire l'objet d'une étude intéressante. Mais en nous tenant au point de vue pratique de l'analyse, nous proposons de distinguer les caillots homogènes, les caillots dilacérés et les caillots que nous appelons moyens, qui ne sont ni homogènes ni dilacérés. La présence de bulles gazeuses, une fermentation tumultueuse sont des caractères péjoratifs. On observe parfois que des caillots

homogènes présentent quelques bulles gazeuses disséminées, ces bulles en remontant le long des parois du caillot produisent de faibles dépressions, c'est ce que nous appelons : caillots homogènes ravinés.

L'odeur produite par suite de la fermentation peut donner quelques indices sur la nature des ferments qui sont intervenus. Nous avons observé des laits fermentés à odeur lactique, éthérée, fécaloïde, butyrique, etc... Il est intéressant de noter ces caractères. Si l'on a le temps, la réaction finale, acide, alcaline du lait fermenté sera enregistrée. On pourra la compléter par l'étude des germes, cause de ces fermentations anormales ; mais cette étude rentre plus particulièrement dans la catégorie des recherches scientifiques.

La production de bulles gazeuses est due à divers microbes parmi lesquels les plus fréquents sont les *B. coli* et le bacille aérogène. L'étude du lait fermenté à 37° complètera celle de la recherche du *Bact. coli*. Nous avons observé que le *B. coli* déterminant la coagulation du lait produit souvent la formation d'un caillot dilacéré et de bulles gazeuses. L'odeur fécaloïde des cultures (spécialement en eau peptonée) où le *Bact. coli* s'est multiplié est un indice supplémentaire que l'on n'oubliera pas de signaler.

ÉTUDE DES PRÉPARATIONS COLORÉES.

Voici comment nous procédons pour réaliser ces préparations : avec une pipette stérile, on prélève 1/20^e cent. cube de lait que l'on étale sur une lame de verre porte-objet (format anglais). On dessèche à la chaleur, à 100°, dans une étuve sèche, par exemple ; on laisse refroidir, puis on colore à froid au bleu de méthylène phéniqué. On lave prudemment à l'eau pour ne pas enlever la pellicule de lait, on sèche et l'on examine à l'immersion sous une couche d'huile de cèdre. Pour conserver la préparation, on la nettoie au xylol et on la conserve sèche à l'abri de la lumière.

On recherche le nombre de leucocytes et de microbes ainsi que leur forme (diplocoques, bacilles, coccus divers, levures, moisissures, etc.). On tiendra compte de ces diverses indications. Les microbes qui se sont développés dans le lait se colo-

rent en bleu noir. Nous avons pu faire une remarque intéressante qui nous paraît assez générale au sujet des laits stérilisés.

Pour ces laits, les microbes tués ne se colorent pas en bleu; par la technique que nous suivons, ils apparaissent brillants comme ceux que l'on voit dans les préparations faites à l'encre de Chine. Ces microbes ont été tués, leur colorabilité est modifiée. On arrive ainsi à se rendre compte si le lait avant stérilisation renfermait beaucoup ou peu de germes. Lorsque les microbes poussent dans un lait stérilisé, ils se colorent, leur abondance est alors un signe défavorable. Dans ces cas, on ne constate souvent qu'une seule espèce de germes vivants. Ces constatations corroboreront celles des cultures sur gélose et sur gélatine. Le lait homogénéisé présente un aspect particulier, dû au traitement spécial qu'il a subi. Le lait apparaît au microscope comme formé d'une infinité de petites bulles placées côte à côte. La recherche des microbes dans ces laits n'est pas toujours aisée.

Les laits crus aseptiques, les laits fraîchement traités ne montrent en préparation directe que de très rares microbes; parfois, on n'en trouve pas du tout.

Il n'y a pas d'autres indications particulières que celles que nous avons données au sujet de l'examen de préparation du dépôt leucocytaire. On recherche dans ce dépôt les streptocoques, le bacille tuberculeux. On note les autres germes observés comme indications.

Il est parfois intéressant de faire des préparations colorées des laits après fermentation à 37°C.

On notera, cela va de soi, la présence de microbes pathogènes, reconnaissables à leur forme (streptocoques pyogènes, bacille tuberculeux, etc.).

IDENTIFICATION DES GERMES.

Il ne s'agit évidemment pas d'identifier tous les germes que l'on peut trouver dans un lait. Cela représente un travail très laborieux dont le résultat n'est pas en rapport, en général, avec la peine qu'il coûte. Nous comprenons, sous le terme d'identification, la réunion des renseignements obtenus sur les microbes, par l'étude courante du lait que nous pratiquons.

Les laits stérilisés ou pasteurisés parfaits ne renferment pas de germes ou seulement des microbes sporulés. On constate la présence de ces germes dans les préparations colorées, surtout dans celles du lait après fermentations dans les cultures (colonies de *Bact. mesentericus*, *Bact. subtilis*). On constate très fréquemment l'existence de microbes sporulés sur la gélose minérale lactosée employée pour la recherche du colibacille. Sur ce milieu, en effet, les microbes produisent facilement leurs spores. L'existence de moisissures et de levures dans les laits stérilisés ou pasteurisés indique que le chauffage a été mal fait ou l'existence de contaminations postérieures au chauffage du lait; ces organismes sont, on le sait, tués à des températures de 50 à 55°C; c'est pour cela que l'on considère comme défavorable leur présence facile à reconnaître en culture. Est aussi considéré comme mauvais, le fait de trouver dans un lait pasteurisé ou stérilisé plus de trois sortes de germes non sporulés.

Les laits crus aseptiques et les laits ordinaires ont une flore plus variée que les laits précédents, on leur tolérera la présence de six sortes de germes. On considérera comme défavorable la présence dans les cultures de microbes chromogènes en abondance, celle du *Bact. fluorescens liquefaciens* ou l'abondance de moisissures ou de levures. Si l'on ne constate qu'une seule sorte de microbes ou un petit nombre d'espèces en grande abondance, on en tirera la conclusion d'une pullulation, indice d'une mauvaise conservation du lait. La présence des germes pathogènes fera évidemment condamner le lait à un point de vue hygiénique.

APPRÉCIATION DE LA VALEUR DU LAIT.

Elle résulte de l'ensemble des constatations esquissées ci-dessus. Elle variera suivant les catégories de laits. Pour fixer les idées et pour amener une unité désirable dans l'appréciation des analyses bactériologiques et hygiéniques, nous proposons de donner des points à chaque sorte de recherches.

Nous attribuons : 30 points à chacune des recherches principales : Numération sur gélose. Recherche des leucocytes. Catalase. Recherche du *B. coli*; 10 points à l'épreuve de la

réductase; 10 *points* à la fermentation à 37°; 5 *points* à l'examen des préparations colorées et 5 *points* à l'identification des germes, soit un total de 150 *points*. Pour chaque catégorie de lait, l'échelle d'appréciation varie, ainsi que l'indique le tableau suivant :

CATÉGORIE DE LAIT	LAITS STÉRILISÉS et pasteurisés	LAITS CRUS aseptiques	LAITS ORDINAIRES
Maximum	150 points.	150 points.	150 points.
Analyse favorable . .	de plus 130	plus de 130	plus de 115
— médiocre . .	de 120 à 130	de 115 à 130	de 100 à 115
— défavorable .	moins de 120	moins de 115	moins de 100

Les bases d'appréciation pour l'évaluation de chaque essai sont données ci-dessous :

Numération par culture. — Maximum 30 points.

A. Pour les laits stérilisés et pasteurisés, cultures sur gélose à 37°, après trois jours :

De 0 à 100 germes par cent. cube	30 points.
De 100 à 200 — —	28 —
De 200 à 500 — —	27 —
De 500 à 1.000 — —	25 —
De 1.000 à 5.000 — —	21 —
De 5.000 à 30.000 — —	18 —
De 30.000 à 50.000 — —	15 —
Plus de 50.000 — —	0 —

B. Pour les laits crus aseptiques, cultures sur gélose 37°, après 3 jours :

De 0 à 1.000 germes par cent. cube.	30 points.
De 1.000 à 3.000 — —	28 —
De 3.000 à 10.000 — —	26 —
De 10.000 à 25.000 — —	24 —
De 25.000 à 40.000 — —	22 —
De 40.000 à 50.000 — —	20 —
De 50.000 à 100.000 — —	5 —
Plus de 100.000 — —	0 —

C. Pour les laits ordinaires, cultures sur gélose 37°, après trois jours :

	Moins de 10.000 germes par cent. cube. . .	30 points.
De	10.000 à 50.000 — — . . .	27 —
De	50.000 à 100.000 — — . . .	25 —
De	100.000 à 500.000 — — . . .	20 —
De	500.000 à 2.000.000 — — . . .	15 —
De	2.000.000 à 10.000.000 — — . . .	10 —
	Plus de 10.000.000 — — . . .	0 —

Recherche des leucocytes. — Maximum : 30 points.

Pour toutes les catégories de laits :

De 0,0 à 0,5 pour 1.000.	30 points.
De 0,6 à 0,9 —	25 —
De 1,0 à 1,5 —	15 —
De 1,6 à 2,0 —	2 —
Plus de 2,0 —	0 —

S'il y a du sang dans le dépôt, déduire 20 points du total général.

Recherche de la catalase. — Maximum : 30 points.

A. Pour les laits crus aseptiques et les laits ordinaires :

De 0,0 à 3,5 cent. cube d'oxygène en 2 heures. . . .	30 points.
De 3,5 à 4,0 — — —	15 —
De 4,0 à 5,0 — — —	5 —
Plus de 5,0 — — —	0 —

B. Pour les laits stérilisés et pasteurisés :

0 cent. cube d'oxygène en 2 heures. . . .	30 points.
De 0,0 à 2,0 — — —	15 —
Plus de 2,0 — — —	0 —

Recherche du colibacille et des germes pathogènes. —
Maximum : 30 points (pour tous les laits).

Absence du colibacille	30 points
Présence du colibacille en abondance	0 —
Présence du colibacille en absence de bulles de gaz à l'essai de fermentation à 37° C.	15 —

S'il y a des microbes pathogènes (streptocoques, bacilles tuberculeux, etc.) déduire 50 points du total général.

Epreuve de la réductase. — Maximum : 10 points (pour tous les laits) comprenant 5 points attribués à la réduction et

5 points à la rapidité de coagulation (voir ci-dessous à l'essai de fermentation pour les points à attribuer suivant le temps de coagulation). On calcule ces temps à partir du moment où le lait est complètement réduit.

Vitesse de réduction :

Réduit après plus de 24 heures; qualité très bonne . .	5 points.
— en 10 à 24 heures, qualité bonne	4 —
— en 6 à 10 — — — — — bonne	3 —
— en 2 à 6 — — — — — moyenne.	2 —
— en 1/4 à 2 — — — — — mauvaise.	1 —
Réduction immédiate ou en moins de 1/4 d'heure, qualité très mauvaise	0 —

Si l'on constate la formation de bulles gazeuses, déduire un point.

Essai de fermentation à 37° C. — Maximum : 10 points.

Le maximum attribué à cet essai comprend 5 points attribués à la rapidité de coagulation et 5 points attribués à l'aspect du caillot formé.

A. *Rapidité de coagulation.* — Maximum : 5 points. (Pour tous les laits.)

Coagulé après	25 heures.	5 points.
—	18 à 24 —	4 —
—	12 à 18 —	3 —
—	8 à 12 —	2 —
—	4 à 8 —	1 —
— moins de	4 —	0 —

B. *Aspect du caillot.* — Maximum : 5 points. (Pour tous les laits et pour l'épreuve de la réductase) :

Caillot homogène	5 points.
— — — raviné	4 —
— — — moyen.	3 —
— — — dilacéré	2 —

S'il y a production de bulles gazeuses, déduire un ou deux points suivant l'abondance de dégagement gazeux. Il arrive assez souvent que dans les laits pasteurisés ou stérilisés on observe une fermentation tumultueuse. Elle est due à des microbes sporulés, au *Bac. subtilis* et à ses variétés, ils produisent une odeur de fromage éthérée. On accordera 4 points à ces laits.

Examen des préparations directes du lait (Frottis). — Maximum : 5 points. (Pour toutes les catégories de laits déduire 2 points si les leucocytes sont nombreux ou très nombreux).

A. Pour les laits stérilisés, pasteurisés et crus aseptiques :

Si les microbes ne sont pas colorés, quel que soit leur nombre	5 points.
Pas de germes	5 —
Germes colorés rares	4 —
— peu nombreux	3 —
— assez nombreux	2 —
— nombreux, ou plus de trois sortes, ou germes pathogènes	0 —

B. Pour les laits ordinaires :

Germes peu nombreux	5 points.
— assez nombreux et moins de six sortes	4 —
— nombreux	2 —
— nombreux, plus de six sortes ou germes pathogènes	0 —

Identification des germes. — Maximum : 5 points.

A. Pour les laits stérilisés et pasteurisés :

Microbes sporulés ou pas de germes	5 points.
— autres que sporulés	3 —
Plus de trois sortes de germes non sporulés	2 —
Moisissures, levures ou germes pathogènes	0 —

B. Pour les laits crus aseptiques et ordinaires :

Plus de six sortes de germes	4 points.
<i>B. fluorescens liquefaciens</i> , microbes chromogènes ou moisissures abondantes	4 —
Deux ou trois sortes de germes seulement ou une espèce dominante	2 —
Germes pathogènes	0 —

Saléité du lait. — On aura une idée de la quantité de matières étrangères du lait (matières excrémentitielles, terre, débris végétaux, etc.) par l'examen du dépôt obtenu par centrifugation du lait. (Voir recherche des leucocytes.) Ces matières étrangères trahissent un traitement malpropre du lait, soit à la traite, soit pendant les manipulations subséquentes. Il y a lieu d'en tenir compte dans l'appréciation de la valeur du lait. On

déduira du total attribué au lait analysé trois points si la saleté est forte.

Pour établir la valeur à attribuer à un lait, on comparera au tableau d'appréciation pour chaque catégorie de laits le total des points obtenus en additionnant la valeur attribuée par l'analyse à chaque essai. Dans les cas douteux ou embarrassants, on sera parfois amené à ajouter ou à retrancher quelques points. C'est là une question d'appréciation basée sur l'ensemble des résultats d'analyse en tenant compte des circonstances et de la technique employée. Ces attributions de points seront toujours motivées.

• Les nombreuses vérifications que nous avons faites nous ont montré que l'on peut parfaitement appliquer à la pratique les données que nous ont fournies nos recherches. Les vérifications faites sur les laits mis en vente établissent qu'il n'est pas impossible pour les laitiers de réaliser les conditions exprimées par les chiffres ci-dessus. Au contraire, nous pensons être utile au commerce du lait en lui faisant connaître nos méthodes d'appréciation. Il ne trouvera que des avantages à fournir du lait répondant aux conditions susmentionnées, avantages de contrôle scientifique dont leur clientèle aura le plus grand profit.

Nous nous sommes inspiré pour établir les règles d'évaluation numérique des laits des recherches américaines « *Milk and its relation to the public health. Hygienic Laboratory Nr. 41. — Treasury Department Washington. U. S. A. 1908* ».

On a fait aux Etats-Unis, pour l'appréciation des vacheries et laiteries, des tableaux où chaque point à examiner par les contrôleurs est coté suivant des règles fixes. Cette manière d'opérer a l'avantage de chiffrer la valeur d'un établissement et permet de le classer dans des catégories. Par ce procédé mathématique d'évaluation, on ne laisse au contrôleur aucune liberté d'appréciation; il lui suffit de constater l'état actuel des vacheries et laiteries et d'inscrire pour chaque poste prévu le nombre de points à attribuer suivant des indications précises. De la sorte deux contrôleurs opérant séparément arriveront à un résultat semblable, pourvu qu'ils soient bien au courant de leur besogne. Le travail d'appréciation devient quelque chose d'impersonnel et a une réelle valeur comparative. Nous avons pensé qu'il était possible d'opérer de façon analogue pour les

laits. La présente note, fruit de longs essais et d'une expérience journalière de quatre années, a été rédigée dans cet ordre d'idées. Avec la méthode d'évaluation chiffrée des laits que nous préconisons, il est possible à deux bactériologistes opérant indépendamment l'un de l'autre d'arriver à des conclusions identiques pourvu qu'ils suivent les règles édictées. En tenant compte des circonstances analytiques, on peut parfaitement, dans ces conditions, discuter une analyse contradictoire dans le cas où il y a lieu à poursuites judiciaires, notamment. Jusqu'à ce jour, on n'avait pas de bases pour apprécier, d'une façon correcte, les analyses bactériologiques de laits.

Notre note tend à combler cette lacune et à mettre fin à une situation embarrassante pour ceux qui doivent juger de la qualité bactériologique et hygiénique d'un lait. La méthode que nous préconisons est évidemment purement conventionnelle, mais, telle qu'elle est, elle nous semble être un progrès. Il y aura évidemment lieu de l'améliorer en tenant compte des progrès scientifiques. Les appréciations obtenues ne peuvent avoir une valeur absolue, elles sont surtout comparatives et varieront suivant que l'on désire être plus ou moins sévère dans les évaluations des divers postes analytiques.

*
* *

Nous complétons ces indications en donnant ci-contre un modèle de feuille d'expérience dont la disposition facilitera les recherches et l'évaluation des résultats d'analyse. Ce modèle nous sert depuis plusieurs années et nous a donné toutes satisfactions. Il permet de faire l'histoire du prélèvement et de l'analyse des laits étudiés, et à ce point de vue son utilité a été démontrée par la pratique et des examens fréquents des laits des vacheries du Département Laiteries de la Coopérative de l'Agglomération bruxelloise (Comité national) et de ceux des laits commerciaux débités dans le grand Bruxelles depuis 1915, jusqu'à ce jour.

LABORATOIRE INTERCOMMUNAL
de Chimie et de Bactériologie de l'Agglomération Bruxelloise

Bruxelles, le

191

Analyse bactériologique. Lait

Lait n° :

Firme :

En flacon non (1) stérile du Laboratoire intercommunal, bouteille, cruche. Daté du :

Prélevé le 191, par à heures.

Ensemencé le à heures.

Conservé } depuis } à la glacière, à la
jusque } température ordinaire (°C)

Répondu le :
Statistique n° :

LAIT entier, partiellement écrémé :
cru, aseptique, stérilisé, pasteurisé, ordinaire.

Fermeture : carton, caoutchou
métallique.

Pas de rentrée d'air.

Pas de coup de marteau.

Gélose 1/10

1/

Gélatine 1/10

1/

Leucocytes : pour 1000.

Saleté : nulle, traces, très assez faible, forte, considérable.

Bouillon phéniqué . . .

Gélose minérale . . .

Fau peptone . . .

Gélatine . . .

Catalase cent. cubes après 2 heures;

cent. cubes après 24 heures.

Réduction début :

Lait à 37° début :

Préparation directe :

Gélose minérale :

CONCLUSIONS

			NOMBRE D'ESPÈCES	
			germes par c. c.	
Préparation dépôt :		30	Gélose à 37° après 3 jours	germes par c. c.
		30	Gélatine après jours	id. id.
		30	dont p. 100 liquéfiant.	
		30	Leucocytes : p. 1000	Catalase } c.c. après 2 h.
		30	Colibacilles :	c.c. après 24 h.
OBSERVATIONS		10	Bacille tuberculeux :	
		10	Streptocoque.	
		10	Réductase { réduit après heures.	
		10	non coagulé après heures.	
		10	Qualité : très mauvaise, moyenne, très bonne.	
		10	Fermentation à 37°. Non coagulé après heures.	
		5	Pas de microbes, nombreux, colorés et non colorés	
		5	Pas de microbes, nombreux, colorés et non colorés	
		5	SALETÉ :	
		5	Préparation du dépôt :	
		150	Germes identifiés :	
		150	RÉSULTAT : favorable, médiocre, défavorable, non con-	
		150	forme à l'étiquette.	
		150	ANALYSE chimique : bonne, médiocre, défavorable	
		150	Mouillage : p. 100.	
		150	Nitrates : présence, absence.	
		150	Fait par :	
		150	Date : 191	
LE CHEF DE SERVICE,				

1. Biffer les indications inutiles et remplir les blancs suivant les données expérimentales.

LES VACCINATIONS ANTIRABIKUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1918

par JULES VIALA, Préparateur au Service antirabique.

Pendant l'année 1918, 1.805 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur de Paris : 5 sont mortes de la rage, soit une proportion brute de 0,27 p. 100.

Une de ces personnes a été prise de rage au cours du traitement. Une autre a subi irrégulièrement le traitement; elles doivent donc être défalquées.

Personnes traitées	1.803
Morts de rage	3
Mortalité p. 100.	0,16

Le tableau ci-dessous indique les résultats des vaccinations depuis l'origine :

ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100	ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100
1886	2.671	25	0,94	1903	628	2	0,32
1887	2.770	14	0,79	1904	755	3	0,39
1888	1.622	9	0,55	1905	721	3	0,41
1889	1.830	7	0,38	1906	772	1	0,13
1890	1.540	5	0,32	1907	786	3	0,38
1891	1.559	4	0,25	1908	524	1	0,19
1892	1.790	4	0,22	1909	467	1	0,21
1893	1.648	6	0,36	1910	401	0	0,00
1894	1.387	7	0,50	1911	341	1	0,29
1895	1.520	5	0,38	1912	395	0	0,00
1896	1.308	4	0,30	1913	330	0	0,00
1897	1.529	6	0,39	1914	373	0	0,00
1898	1.465	3	0,20	1915	634	1	0,15
1899	1.614	4	0,25	1916	1.388	3	0,21
1900	1.420	4	0,28	1917	1.543	4	0,26
1901	1.321	5	0,38	1918	1.803	3	0,16
1902	1.005	2	0,18				

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories :

Catégorie A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Catégorie B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Catégorie C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition entre ces catégories des personnes traitées en 1918 :

ANNÉE 1918	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100
Catégorie A. .	16	0	0	70	0	0	120	0	0	206	0	0
Catégorie B. .	83	0	0	453	1	0,22	349	1	0,28	885	2	0,22
Catégorie C. .	51	1	1,90	320	0	0	341	0	0	712	1	
	150	1	0,66	843	1	0,12	810	1	0,10	1.803	3	0,16

Les personnes se répartissent de la façon suivante, d'après le territoire sur lequel elles ont été mordues :

France.	1.733
Belgique.	51
Angleterre.	18
Allemagne.	1

Répartition par départements des 1.733 personnes traitées mordues en France.

Ain	4	Aveyron	21
Aisne	36	Belfort (territoire de)	5
Allier	9	Bouches-du-Rhône	3
Alsace.	6	Calvados.	10
Ardennes.	6	Cantal.	7
Aube	20	Charente.	3

Cher	19	Marne (Haute-)	10
Corrèze	12	Mayenne	11
Côte-d'Or	13	Meurthe-et-Moselle	21
Côtes-du-Nord	82	Meuse	24
Creuse	21	Morbihan	36
Deux-Sèvres	5	Nièvre	24
Doubs	9	Nord	36
Eure	4	Oise	90
Eure-et-Loir	16	Orne	8
Finistère	31	Pas-de-Calais	73
Garonne (Haute-)	3	Puy-de-Dôme	22
Hérault	1	Saône (Haute-)	12
Ille-et-Vilaine	42	Saône-et-Loire	10
Indre	8	Sarthe	22
Indre-et-Loire	11	Seine	351
Isère	1	Seine-et-Marne	41
Jura	1	Seine-et-Oise	193
Landes	2	Seine-Inférieure	45
Loir-et-Cher	2	Somme	66
Loiret	8	Tarn	4
Loire-Inférieure	3	Vendée	9
Lorraine	1	Vienne	6
Lot	13	Vienne (Haute-)	3
Maine-et-Loir	20	Vosges	24
Manche	7	Yonne	10
Marne	141		

*
* *

PERSONNES TRAITÉES MORTES DE LA RAGE APRÈS LE TRAITEMENT.

HEMMERLING (Marcel), 11 ans, demeurant à Aubervilliers (Seine).

Mordu le 14 octobre au genou droit : deux morsures pénétrantes qui ont saigné.

Traité du 16 octobre au 2 novembre.

Mort de la rage le 5 décembre.

Chien errant, reconnu enragé par M. Vasseur, vétérinaire de la Fourrière.

MAHIEUX (Roger), 12 ans, demeurant à Port-Marly (Seine-et-Oise).

Mordu le 26 octobre à la joue droite : une morsure non cautérisée.

Traité du 30 octobre au 16 novembre.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 15 décembre.

Mort à l'hôpital Pasteur, le 17 décembre.

Chien errant, disparu après avoir mordu.

MARCEL (Henri), 15 ans, demeurant à Champ-Neuf (Somme).

Mordu le 12 novembre : quatre morsures pénétrantes face dorsale main droite, qui ont saigné non cautérisées.

Traité du 12 novembre au 6 décembre.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez lui le 8 avril 1919. Mort le 11 avril.

Le chien a été reconnu enragé par M. Lénel, vétérinaire à Rue (Somme).

PERSONNES PRISES DE LA RAGE EN COURS DE TRAITEMENT.

ZIMMERMAN (Odile), 44 ans, demeurant à Paris, X^e arrondissement.

Mordue le 16 novembre : quatre morsures pénétrantes aux lèvres, qui ont saigné, non cautérisées.

Traitée du 16 novembre au 8 décembre.

Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés chez elle le 8 décembre.

Morte à l'hôpital Pasteur le 10 décembre.

Le chien a été reconnu enragé par M. Vasseur, vétérinaire de la Fourrière.

BEAULAVON (Marguerite), 7 ans, demeurant à Asnières (Seine).

Mordue le 26 octobre à la tempe gauche.

Prise de la rage le 7 janvier 1919. Morte à l'hôpital Pasteur le 9 janvier.

Chien inconnu, a disparu après avoir mordu.

L'enfant Beaulavon a suivi irrégulièrement le traitement et l'a interrompu avant qu'il soit terminé.

Le Gérant : G. MASSON.

